

UNIVERZITA KARLOVA

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Matěj Plecháč

STANOVENÍ VÁPŇÍKU, MĚDI A OLOVA VE VZORCÍCH LISTŮ POMOCÍ
HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE S INDUKČNĚ VÁZANÝM PLAZMATEM

Determination of calcium, copper, and lead in leaves by
inductively coupled plasma-mass spectrometry

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Jakub Hraníček, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Eliška Nováková, Ph.D.

Praha 2021

Tato bakalářská práce vznikla v souvislosti s řešením projektů Grantové agentury
Univerzity Karlovy (projekt č. 1626218 a 297121).

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědom toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 16. 6. 2021

Poděkování

Rád bych touto formou poděkoval vedoucímu této práce RNDr. Jakubovi Hraníčkovi, PhD. za jeho odborné rady a pomoc při zpracovávání práce. Dále bych rád poděkoval konzultantce této práce RNDr. Elišce Novákové, PhD. za její trpělivost a čas při dohledu nad experimentální částí této práce. Děkuji také Mgr. Tereze Krajzingrové z katedry zoologie PřF UK za sběr a poskytnutí vzorků pro analýzu.

Abstrakt

V této práci byly stanovovány koncentrace vápníku, mědi a olova ve vzorcích listů pomocí metody ICP-MS. Vzorkovaný materiál pocházel z různých míst České republiky a jednalo se o listy různých druhů stromů. Vzorky listů byly sušeny a poté rozloženy v mikrovlnném rozkladném zařízení za přítomnosti koncentrované kyseliny dusičné. Ve výsledcích bylo prokázáno, že koncentrace kovů se liší podle lokality sběru a v rámci jedné lokality byly různé u listů jednotlivých rostlinných druhů. Stanovené koncentrace vápníku se pohybovaly v rozmezí 5,6 – 30 mg/g a její průměrná koncentrace byla 14 mg/g. Koncentrace mědi byla v rozmezí 4,3 – 18 µg/g a její průměrná koncentrace byla 9,91 µg/g. Koncentrace olova byla v rozmezí 0,19 – 3,2 µg/g a jeho průměrná koncentrace byla 0,79 µg/g. V této práci bylo také ověřeno, že zvolený postup přípravy vzorků byl vhodný pro analýzu vzorků listů na ICP-MS, a že metoda ICP-MS byla díky nízkým limitům detekce vhodná pro stanovení koncentrací všech vybraných kovů.

Klíčová slova

Hmotnostní spektrometrie, indukčně vázané plazma, listy, kovy, mikrovlnný rozklad

Obsah

1. Úvod	7
1.1. Cíl práce	7
2. Teoretická část	8
2.1. Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem.....	8
2.2. Mikrovlnné rozkladné zařízení.....	9
2.3. Měď.....	10
2.4. Olovo.....	11
2.5. Vápník.....	13
2.6. Analýza stopových prvků v biologickém materiálu pomocí ICP-MS.....	14
2.7. Stanovení stopových prvků v listech pomocí ostatních metod	18
3. Experimentální část	19
3.1. Seznam použitých chemikálií.....	19
3.2. Použité přístroje a pomůcky	19
3.3. Sběr vzorků	19
3.4. Příprava vzorků	22
3.5. Analýza vzorků.....	23
4. Výsledková část a diskuse.....	25
4.1. Vyhodnocení výsledků.....	25
4.2. Diskuse.....	32
5. Závěr	35
6. Seznam použité literatury.....	36

Seznam použitých zkratk a symbolů

BEC	koncentrace odpovídající pozadí
c_m	hmotnostní koncentrace
CPS	počet pulsů za sekundu
ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
INAA	instrumentální neutronová aktivační analýza
LOD	mez detekce
m	hmotnost
PTFE	polytetrafluorethylen
RPS	otáčky za sekundu
RSD	relativní směrodatná odchylka
s	směrodatná odchylka
V	objem
z	náboj

1. Úvod

Kovy, které jsou sorbované na povrchu prachových částic jsou spolu s nimi důležitou součástí znečištění ovzduší. V životním prostředí se prachové částice se sorbovanými kovy ukládají do půdy, vody, živých organismů a také do listů a kořenů rostlin. V této práci budou jako vzorkovaný materiál použity právě listy, na kterých se prachové částice usazují, a poté různými procesy dochází k akumulaci kovů z prachových částic dále do rostliny. Množství kovů, které list obsahuje pak závisí na čtyřech faktorech: (a) detoxifikačních mechanismech, kterými rostliny disponují, (b) fytořemediaci – schopnosti některých rostlin zachycovat těžké kovy a transportovat je do jiných částí rostliny, (c) schopnosti listu akumulovat kovy, která se liší podle druhu stromu, a (d) množství kovů v listech závisí také na koncentraci prachových částic v ovzduší, na kterých je kov sorbován. V této práci budou v listech stanovovány koncentrace vápníku, mědi a olova. Tyto prvky jsou běžně předmětem studií znečištění ovzduší. Jejich zvýšená koncentrace v ovzduší bývá důsledkem lidské činnosti.

Pro analýzu vzorků byl vybrán hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS). Tento přístroj se pro stropovou analýzu kovů běžně využívá kvůli svým přednostem, kterými jsou nejnižší meze detekce mezi atomovými spektrometrickými analytickými metodami a současně široký rozsah měřitelných koncentrací. Rozklad vzorků listů byl proveden v mikrovlnném rozkladném zařízení, které je schopno listy úplně rozložit, aby mohlo dojít k jejich analýze. Celkem byly stanoveny koncentrace vybraných kovů v 53 vzorcích listů. Vzorkovány byly různé druhy stromů na různých místech České republiky.

1.1. Cíl práce

Před analýzou bylo nutné vzorky dokonale vysušit, aby neobsahovaly žádné zbytky vlhkosti. Dále bylo nutné pevné vzorky převést do roztoku pomocí rozkladu vzorku v mikrovlnném rozkladném zařízení za působení kyseliny dusičné, zvýšené teploty a zvýšeného tlaku. Následně byla provedena analýza roztoků vzorků metodou ICP-MS a byly změřeny a vypočteny koncentrace vybraných kovů ve vzorcích listů. Posledním cílem této práce byla diskuse nad získanými výsledky.

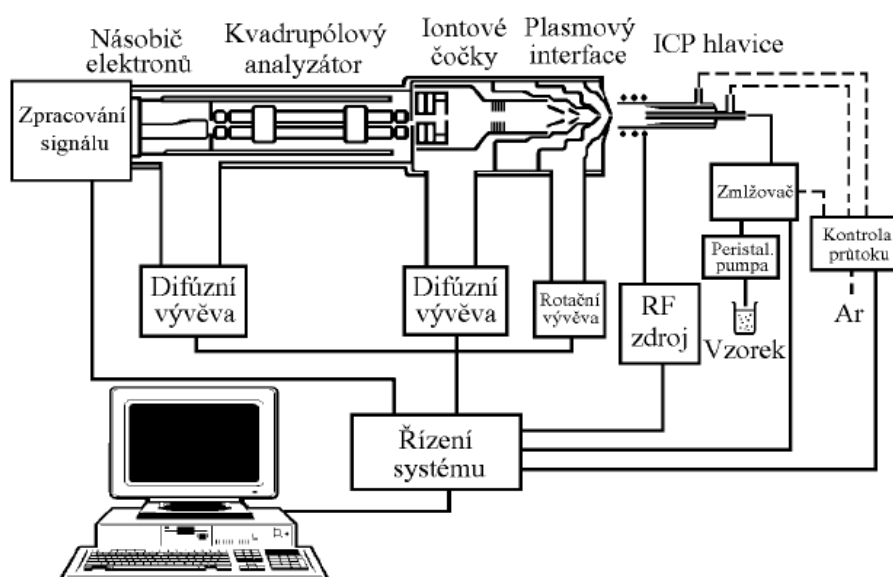
2. Teoretická část

2.1. Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem je analytická metoda využívající indukčně vázaného plazmatu jako zdroje iontů a hmotnostní spektrometr pro jejich separaci na základě poměru hmotnosti a náboje. Mezi hlavní přednosti ICP-MS patří široký koncentrační rozsah, dále pak velmi nízké meze detekce a stanovitelnosti v porovnání se všemi rutinně používanými analytickými metodami. Důležitá je možnost propojení analytického zařízení se separačními metodami jako je kapalinová a plynová chromatografie [1]. Metodou ICP-MS lze také stanovit procentuální zastoupení izotopů ve vzorku [2].

Princip metody

Metoda využívá propojení hmotnostního spektrometru s iontovým zdrojem ve formě indukčně vázaného plazmatu. Důležitou součástí instrumentace je interface (Obr. 2.1.), který zajišťuje spojení obou částí přístroje, přičemž iontový zdroj pracuje za atmosférického tlaku a hmotnostní analyzátor ve vakuu [3]. Interface rovněž zajišťuje oddělení iontů vzorku od stínícího plynu argonu. Iontový zdroj využívá plazmové hlavice, která obsahuje plazma argonu spalovaného v elektromagnetickém poli generovaném cívkou. Do plazmatu, které dosahuje teplot 6 000 – 10 000 K, je přiváděn aerosol vzorku. Dochází k vypaření, atomizaci a následné ionizaci atomů ve vzorku. Vznikající ionty prolétají velkou rychlostí přes interface do hmotnostního analyzátoru, kde jsou rozděleny podle poměru m/z [1].



Obr. 2.1.: Schéma přístroje ICP-MS s kvadrupólovým analyzátozem [1]

Hmotnostní analyzátory

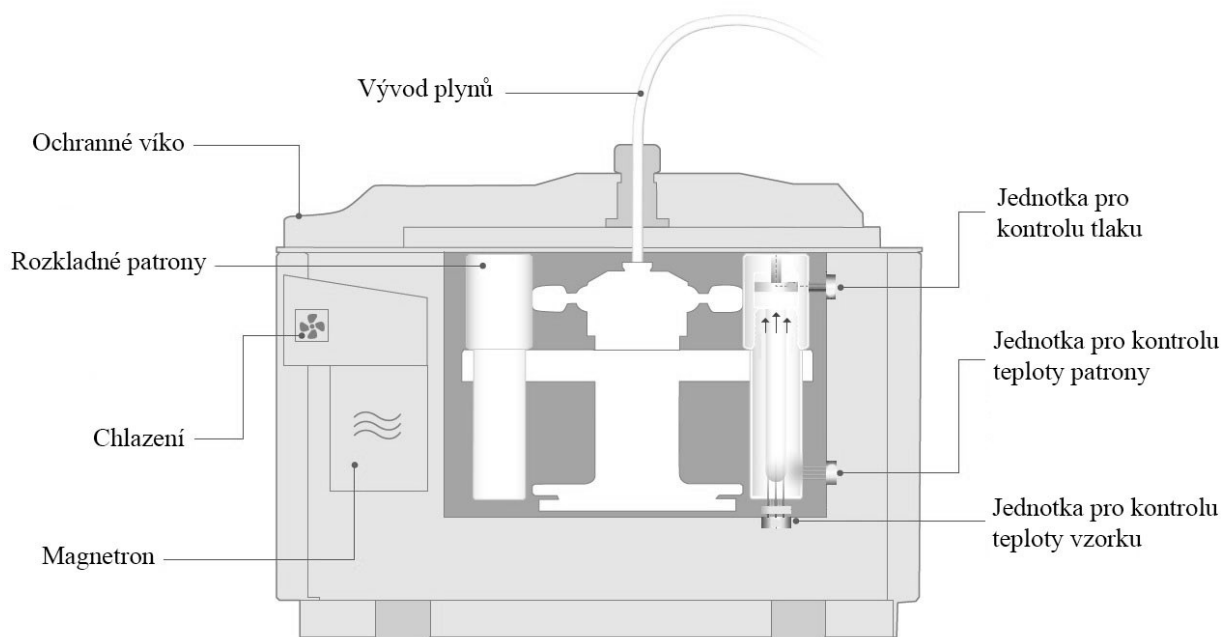
Hmotnostní analyzátory se využívají pro rozdělení iontů, dle jejich poměru m/z . Nejčastěji je využíván kvadrupólový analyzátor, dále pak průletová trubice, nebo iontová past [1].

Kvadrupólový analyzátor obsahuje čtyři elektrody kruhového průřezu umístěné do tvaru kosočtverce. Mezi nimi prolétají analyzované ionty. Analyzátor funguje jako filtr. Vkládáním určitého napětí na elektrody kvadrupólu dochází k propuštění pouze iontů o dané hmotnosti, která je lineárně závislá na elektrickém potenciálu elektrod. To umožňuje provádět sken v určeném rozsahu m/z , který vede k zisku hmotnostního spektra [1].

Průletový analyzátor je trubice, do níž vstupují ionty se stejnou počáteční kinetickou energií. V trubici na ionty nepůsobí žádné pole a doba průletu iontu je tedy nepřímo úměrná jeho hmotnosti. Postupně jsou detegovány ionty podle rostoucího poměru m/z [4].

2.2. Mikrovlnné rozkladné zařízení

Využívá k rozkladu materiálu záření o frekvencích 300 MHz až 300 GHz [4]. Rozklad probíhá za zvýšené teploty a zvýšeného tlaku. To zkracuje dobu rozkladu a eliminuje vzájemnou kontaminaci vzorků [5]. Výhodou mikrovlnného záření je, že proniká stěnou rozkladné patrony a je absorbováno molekulami vzorku. Varu reakční směsi je dosaženo dříve než při obyčejném tepelném ohřevu [4].



Obr. 2.2.: Schéma mikrovlnného rozkladného zařízení Berghof Speedwave Xpert [6]

Mikrovlnné rozkladné zařízení Speedwave Xpert (Obr. 2.2.) je schopné rozkladu vzorků se složitými matricemi za zvýšené teploty a tlaku. Plynulý rozklad vzorků je zajištěn jednotkami pro měření tlaku a teploty, které kontrolují vznik spontánních reakcí. Rozkladné patrony jsou vyrobeny z polytetrafluorethylenu (PTFE), který je pevný a málo porézní [6].

Princip metody

Na rozdíl od tepelného rozkladu zde nedochází k ohřevu celé nádoby se vzorkem. Ohřev energií z mikrovlnného záření produkuje teplo pouze tehdy, když molekuly vzorku absorbují záření. K absorpci záření dochází nejčastěji dvěma mechanismy. A to rotací dipólů nebo iontovou vodivostí. Rotace dipólů může probíhat pouze u molekul, které vytváří takzvaný dipól, například u molekuly vody. Molekulové dipóly se snaží orientovat ve směru elektrického pole. Mikrovlny velmi rychle mění polaritu elektrického pole, které tak osciluje a nutí dipólové molekuly k pohybu. Molekuly se snaží pohyb elektrického pole sledovat, snaží se měnit svoji orientaci a dochází k jejich vibraci až rotaci. Takový pohyb molekul se projevuje zahříváním vzorku. Při iontové vodivosti dochází k migraci iontů podle směru vloženého elektromagnetického pole. Tok urychlených iontů naráží na odpor a dochází k zahřívání vzorku. Díky těmto mechanismům probíhá ohřev vzorku rychleji než při klasickém ohřívání například plamenem [7].

2.3. Měď

Měď je ušlechtilý kov patřící mezi přechodné kovy první řady. V periodické tabulce prvků mu náleží místo v 11. skupině a 4. periodě. Je méně reaktivní než ostatní kovy první řady. Měď se vyskytuje ve více oxidačních stavech. Nejčastější jsou oxidační stavy I a II. Oxidační stavy III a IV jsou vzácné. Dále se měď může vyskytovat i v oxidačním čísle 0 [8].

V přírodě se přirozeně vyskytují dva stabilní izotopy mědi: ^{63}Cu a ^{65}Cu s průměrným zastoupením 69,17 % (^{63}Cu) a 30,83 % (^{65}Cu) [9]. Měď je třetím nejvíce využívaným kovem. Známé slitiny mědi jsou bronz (s cínem) a mosaz (se zinkem). V současnosti je zajímavé využití mědi v různých elektricky nebo tepelně vodivých materiálech. Z uvedených prvků má měď nejvyšší teplotu tání (Tab. 2.1.) [8].

Funkce v organismu

Měď je pro život nezbytný, biogenní prvek. Přirozeně se vyskytuje v krvi, kde je vázána na protein ceruloplasmin. Měď je součástí různých enzymů v organismu, například v cytochromoxidáze. U měkkýšů v dýchacím proteinu hemocyaninu plní měď stejnou

funkci jako železo v hemoglobinu [10]. Měď je v organismech různě distribuována. Rostliny mají nejvyšší koncentrace mědi v semenech, konkrétně v jejich svrchní vrstvě. U člověka je vyšší koncentrace mědi u novorozence než u dospělého jedince. Z orgánů a tkání mají nejvyšší koncentraci mědi ledviny a nehty. Z tělních tekutin pak krev [11]. Pro rostliny je měď esenciální. Je obsažena v proteinu plastocyaninu, který je důležitý v procesu fotosyntézy. Nedostatek i nadbytek mědi v půdě inhibuje růst rostlin [12].

Dostupnost v přírodě

Elementární měď je v přírodě stabilní. Může být přírodního původu, nebo je produkována lidskou činností (průmysl, odpadní vody). Absorbuje se do vodních sedimentů. Ve vodě rozpustné sloučeniny mědi mohou být přítomné v podzemní vodě. Dvojmocná měď je silně vázána v organických sloučeninách v půdě [13]. Přítomnost mědi v půdě má vliv na rostliny, které v ní rostou, protože se absorbuje z půdy do kořenů rostliny. Při vysokých koncentracích může být měď v půdě toxická pro ekosystém jako celek. Tyto důvody vedly k tomu, že se začala posuzovat ekologická rizika spojená s koncentracemi mědi v půdě [14].

Vliv na organismus

Měď vázaná na protein ceruloplasmin není toxická. Toxicita mědi je asociována s volnou mědí, která není vázaná na ceruloplasmin a způsobuje tkáňové poškození [13]. Nedostatek mědi způsobuje anémii, která je výsledkem ztráty schopnosti absorbovat železo z potravy. V párách a v roztoku o vyšších koncentracích je měď toxická. Dochází k překročení kapacity ceruloplasminu, který není měď schopen dále vázat. Smrtelná dávka pro člověka je asi 10 g. Otrava se projevuje horečkami a nevolností [10].

Tab. 2.1.: Vlastnosti prvků [8]

Prvek	Měď	Olovo	Vápník
Značka	Cu	Pb	Ca
Atomové číslo Z	29	82	20
Relativní atomová hmotnost	63,54	207,20	40,08
Teplota tání [°C]	1 085	327	842
Teplota varu [°C]	2 567	1 749	1 484

2.4. Olovo

Olovo je těžký kov, kterému v periodické tabulce prvků náleží místo v 14. skupině a 6. periodě. [8] Jedná se o měkký šedý kov, přirozeně se vyskytující v zemské kůře. Výjimečně

je nalezeno v čisté podobě, častěji ve formě sloučenin. Je odolné proti korozi a nerozpustné ve většině rozpouštědel [13].

V přírodě se vyskytují 4 stabilní izotopy olova: ^{204}Pb (1,42 %), ^{206}Pb (24,15 %), ^{207}Pb (22,08 %) a ^{208}Pb (52,35 %). Pouze ^{204}Pb se v přírodě přirozeně vyskytuje, ostatní jsou produkty radioaktivních rozpadů těžších prvků. [15] Dříve bylo přidáváno do různých barviv nebo do olovnatého benzínu. Od těchto aplikací bylo postupně upuštěno kvůli jedovatosti olova. V současnosti nachází olovo využití při výrobě olovených akumulátorů nebo ve formě oxidu jako korozivzdorný nátěr na ocel. Ze tří stanovovaných prvků má olovo nejnížší teplotu tání (Tab. 2.1.) [8].

Funkce v organismu

Olovo nemá žádné známé biologické užití v lidském organismu. Jeho přítomnost v organismu je známkou znečištění prostředí. Jakákoliv koncentrace olova v krvi je považována za nebezpečnou [13].

Dostupnost v přírodě

Olovo se do životního prostředí dostává lidskou činností, sopečnou aktivitou nebo erozí půdy. Olovené částice ve vzduchu mohou být produkovány lidskou činností při těžení nebo tavení ve formě síranu olovnatého a sulfidu olovnatého. Téměř všechno olovo vypuštěné lidskou činností do atmosféry je absorbováno do půdy, kde může být zakomponováno do sloučenin reakcemi s minerály přítomnými v půdě. Pokud ale je do půdy absorbováno, tak se jen málokdy dostává do podzemní vody. Ve vodě je olovo nejvíce stabilní ve formě Pb^{2+} . S anionty přítomnými ve vodě tvoří málo rozpustné sloučeniny. Organické sloučeniny olova jako tetraethylolovo jsou ve vodě postupně degradovány až na anorganické oxidy olova [13]. Přímou souvislost s vyšší koncentrací olova v ovzduší a rostlinách má používání olovnatého benzínu [16].

Vliv na organismus

Anorganické sloučeniny olova mají dlouhý poločas v organismu. Olovo se ukládá v červených krvinkách, nervové soustavě a kostech. Právě v kostech, kde mají sloučeniny olova poločas 600–3000 dní je uloženo až 90% olova v organismu. Dochází ke kumulaci olova v organismu, to má chronické následky jako je edém mozku nebo degradace svalových a nervových buněk. Při pozření má olovo charakteristickou kovovou pachut'. Akutní otrava vede k zánětu sliznice a degradaci ledvinových tubulů [10].

2.5. Vápník

Vápník patří mezi kovy alkalických zemin. V periodické tabulce prvků mu náleží místo v 2. skupině a 4. periodě. V čisté formě je vápník měkký, stříbřitý kov. Sloučeniny vápníku, jako například vápno, nachází mnohem větší užití než samotný kov [8]. Existuje 6 v přírodě stabilních izotopů vápníku: ^{40}Ca , ^{42}Ca , ^{43}Ca , ^{44}Ca , ^{46}Ca a ^{48}Ca [17].

Funkce v organismu

Vápník je pro život nezbytný, biogenní prvek. Největší zásoby vápníku v těle jsou v kostech ve formě modifikovaného hydroxyapatitu. Vápník je důležitým regulátorem svalové kontrakce, činnosti nervového systému a srážlivosti krve. Jeho koncentrace v krvi je pečlivě regulována. Nejdůležitějšími regulátory metabolismu vápníku v těle jsou vitamín D a parathormon [18]. V plazmě je vápník přítomen jak ve volné formě, tak navázaný na proteinech. Má také protizánětlivé a antialergické účinky [10]. V rostlinných membránách funguje vápník jako významný přenašeč signálů ve spojení s proteinem kalmodulinem a dalšími proteiny poutajícími Ca^{2+} . V rostlinách má řadu dalších úloh v jejich metabolismu. Zmínit lze například vliv vápníku na stabilitu a integritu pletiv [19].

Dostupnost v přírodě

Vápník je v pátý nejvíce zastoupený prvek v zemské kůře a třetí nejvíce zastoupený kov. Rozsáhlá naleziště uhličitanu vápenatého zastupují fosilní pozůstatky předchozího podmořského života. Nejznámějšími minerály vápníku jsou vápenec, sádra a apatit [20]. Rostliny vápník aktivně přijímají kořeny. Na příjem vápníku má vliv intenzita osvětlení. Koncentrace vápníku v rostlině se pohybuje okolo 0,4-1,5 %. Jeho obsah v rostlině závisí hlavně na koncentraci vápníku v půdě [19].

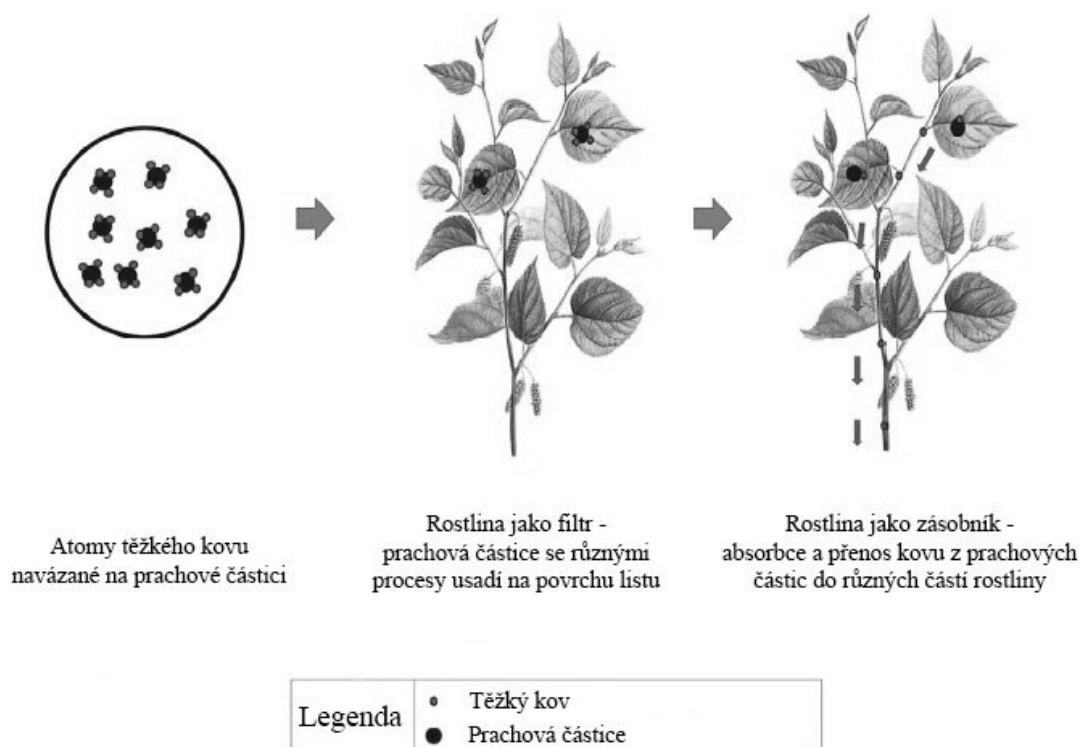
Vliv na organismus

Vápník je biogenní prvek a jeho toxicita je téměř zanedbatelná. Intravenózní aplikace vápníku (roztoku glukonanu vápenatého) musí být prováděna pomalu, jinak nastává vazodilatace, která je doprovázena pocitem horka v obličeji. Silnou žíravinou je hydroxid vápenatý. Při kontaktu s kůží nebo sliznicí připomíná popálenina políť horkou vodou. Cement, obsahující oxid vápenatý, při inhalaci dráždí sliznice a při kontaktu s kůží způsobuje vyrážky [10,21].

2.6. Analýza stopových prvků v biologickém materiálu pomocí ICP-MS

Těžké kovy se lidskou činností dostávají do ovzduší, kde se mohou hromadit na povrchu prachových částic. Ve znečištěných oblastech se částice prachu usazují na listy rostlin a skrz různé procesy dochází k absorpci těžkých kovů rostlinou (Obr. 2.3.). Dochází k akumulaci kovů v různých částech rostliny. Různé druhy rostlin mají rozdílné předpoklady pro záchyt prachových částic, a tedy i akumulaci těžkých kovů [22].

Často se studie zabývají i kořeny rostlin, protože také skrz kořeny může rostlina přijímat těžké kovy. Ty se nejdříve absorbují na povrch kořenu z půdy a poté se dostávají dovnitř. Těžké kovy jsou následně transportovány z kořenů do ostatních částí rostliny. Je obtížné určit původ znečištění těžkými kovy v rostlině, jelikož absorpce kovů probíhá zároveň v listech i v kořenech rostliny [23].



Obr. 2.3.: Mechanismus absorpce prachových částic [22]

Stopová analýza prvků z rostlin rodu *Salvia* pomocí ICP-MS

V této studii bylo analyzováno 5 rostlin rodu *Salvia*. Konkrétně jejich listy, semena, kořeny a květy. Stopová analýza prvků (Li, Be, V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Ag, Cd, Cs, Ba, Hg, Tl, Pb a U) probíhala pomocí ICP-MS. Smíchané rostlinné vzorky byly, před

samotnou analýzou, rozloženy koncentrovanou kyselinou dusičnou v mikrovlnném rozkladném zařízení [24].

Vzorky byly seřazeny podle typu do skupin (semena, kořeny, listy a květy). Poté byly smíchány a omyty deionizovanou vodou. Sušení vzorků probíhalo 48 hodin při 70°C. Suchý vzorek byl rozdrcen a 200 mg sušiny bylo umístěno do rozkladné patrony z PTFE. K vzorku bylo přidáno 6 ml kyseliny dusičné a 2 ml peroxidu vodíku. Následně byl vzorek rozložen v mikrovlnném rozkladném zařízení. Po rozkladu byl vzorek přenesen do zkumavky o objemu 25 ml a zkumavka byla doplněna po rysku deionizovanou vodou. Následně byl vzorek podroben analýze metodou ICP-MS [24].

Rostliny z rodu *Salvia* jsou lidmi užívány pro své léčivé účinky. Pro spotřebitele je důležité znát stopový obsah těžkých kovů v rostlinách. K akumulaci kovů dochází především v kořenech rostlin. Stanovovány byly koncentrace těžkých kovů v různých rostlinách rodu *Salvia*. Nejvyšší nalezená koncentrace mědi byla 20,5 µg/g a nejvyšší nalezená koncentrace olova byla 5,21 µg/g [24].

Osud stopových prvků produkovaných silniční dopravou a jejich zachyt rostlinami rostoucími v blízkosti silnic

Studie se zabývá zkoumáním emisí souvisejících se silniční dopravou v Torontu v Kanadě. Sazenice oregana, řepy a lilku byly vysazeny a pěstovány ve čtyřech osídlených oblastech v blízkosti silnic s různým znečištěním ovzduší. Půda a nadzemní i podzemní část rostlin byly použity pro analýzu určitých kovů, které souvisejí s dopravním znečištěním ovzduší. Zkoumány byly koncentrace prvků: Cr, Mn, Cu, Ni, Cd, As, Sb a Pb. Vzorky byly po mikrovlnném rozkladu podrobeny analýze pomocí ICP-MS [25].

Všechny vzorky byly sušeny v peci přes noc při 60 °C. Asi 300-600 mg usušeného vzorku bylo v teflonové rozkladné patroně ponecháno přes noc s 9 ml kyseliny dusičné a 3 ml kyseliny chlorovodíkové. Následně byla rozkladná patrona se vzorkem umístěna do mikrovlnného rozkladného zařízení a vzorky byly rozloženy při 160 °C po dobu 15 min. Poté byly vzorky vysušeny a následně zředěny na objem 10 ml pomocí 0,5 % kyseliny dusičné. Vzorky byly analyzovány metodou ICP-MS [25].

Výsledkem studie je porovnání zkoumaných míst, na kterých byly rostliny vysázeny. Úroveň znečištění byla pro každé místo jiná, a tedy i akumulace prvků a jejich koncentrace ve vzorcích se lišila. Zvlášť byly hodnoceny vzorky půdy, nadzemní části rostlin a podzemní

části rostlin. Koncentrace manganu, arzenu a antimonu v půdě se po dobu trvání studie (5 měsíců) zvýšila. Pro představu průměrná koncentrace arzenu se zvýšila z 4,98 na 8,40 mg/kg. Bylo zjištěno, že některé prvky se akumulují do podzemních částí rostlin a koncentrace kovů v těchto částech rostlin je vyšší než v půdě [25].

Bioakumulace některých stopových prvků v tropických mangrovech

Říční sedimenty mohou zachytit velké množství znečišťujících látek, které mohou být bioakumulovány mangrovy. Pokud se tak stane, dochází postupně k znečištění celého ekosystému, kterého jsou mangrovy součástí. Hlavním cílem této studie bylo posoudit distribuci některých stopových prvků (Fe, Mn, Co, Ni, Cr, As a Cu) v různých částech rostlin v tropickém mangrovu. Byly odebrány vzorky kořenů a listů některých stromů z mangrovů. Stopová analýza prvků proběhla metodou ICP-MS [26].

Vzorky listů a kořenů byly odebrány z různých druhů stromů vyskytujících se v tropickém mangrovu, komplexním přílivovém porostu. Vzorky byly rozkládány v triplicátech s koncentrovanou kyselinou dusičnou a peroxidem vodíku. Usušené vzorky o hmotnosti 250-500 mg byly umístěny do PTFE rozkladných patron, smíchány s 10 ml kyselinou dusičnou a rozklad probíhal v elektrické peci 12 h při 110 °C. Následně bylo přidáno 2 ml peroxidu vodíku a rozklad byl opakován. Vzorek byl naředěn na objem 25 ml v odměrné baňce deionizovanou vodou a byl připraven k analýze pomocí ICP-MS [26].

Koncentrace prvků ve vzorcích z rostlin reflektovala koncentraci prvků v sedimentu mangrovů. Železo a arzen se vyznačují malou distribucí z kořenů do listů rostliny. Může tomu být proto, že kořeny mangrovů vylučují kyslík, který zamezuje vstupu železa do kořenu. Mangan a Měď se v rostlinách distribuují ve velké míře. To může být dáno jejich využitím pro fotosyntetické procesy v rostlinách, a také vyšší dostupností těchto prvků v sedimentu. Autoři studie se domnívají, že mangrovy mohou fungovat jako sběrači znečišťujících látek tím, že jsou schopné je zachytit a akumulovat ve svých kořenech [26].

Stopová analýza prvků v listech Kustovnice cizí pomocí ICP-MS

V listech kustovnice cizí (*Lycium barbarum*) bylo stanovováno 14 prvků: Al, As, Ca, Cr, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Se, Ti a Zn. Analýza byla provedena metodou ICP-MS po mikrovlnném rozkladu vzorků. Cílem studie bylo stanovit koncentrace těchto 14 prvků a zkoumat vztahy mezi jednotlivými prvky. Kustovnice cizí je důležitou rostlinnou čínské

medicíny. Koncentracím stopových prvků v jejích listech nebyla dosud příliš věnována pozornost, přestože některé z nich jsou důležité jako kofaktory enzymů pro lidský metabolismus [27].

Listy kustovnice cizí byly promyty deionizovanou vodou, usušeny při laboratorní teplotě a rozdrceny v hmoždíři. Asi 0,2 g vzorku bylo umístěno do PTFE rozkladné patrony spolu s 10 ml koncentrované kyseliny dusičné. Po dvou hodinách byla patrona se vzorkem vložena do mikrovlnného rozkladného zařízení a vzorek byl rozložen. Následně byl rozložený vzorek přenesen do odměrné baňky o objemu 50 ml a doplněn po risku deionizovanou vodou. Takto připravený vzorek byl analyzován metodou ICP-MS [27].

Koncentrace stopových prvků v jednotlivých vzorcích se obecně mohou lišit v závislosti na místě odběru, typu půdy, typu klimatu a znečištění ovzduší. Stanovené koncentrace prvků v listech kustovnice cizí klesají v řadě: $Mg > Ca > Fe > Al > Mn > Zn > Cu > Se > Ti > Ni > As > Mo > Cr > Co$. Při porovnávání s koncentracemi stopových prvků v plodech kustovnice cizí bylo zjištěno, že 5 prvků (včetně toxických Al, As, Cr a Cu) má v listech nižší koncentraci než v plodech [27].

Extrémně vysoké koncentrace zinku v listech břízy z Chelyabinsku

Zinek je biogenní prvek. Pokud ale expozice překročí fyziologické hodnoty, může být zinek pro lidský organismus toxický. Ve znečištěném ovzduší je zinek přítomný na prachových částicích. Zinek může být z prachových částic ve velké míře absorbován do listů břízy. Koncentrace zinku byla stanovována v listech břízy v různých vzdálenostech od silnic a továrny na zinek v Chelyabinsku [28].

Před analýzou byly vzorky listů sušeny 3 dny při teplotě 60 °C. Poté byly rozdrceny a prosety přes síto, aby došlo k odstranění nečistot. Vzorky listů a půdy byly rozkládány odděleně ve vodném roztoku kyselinou dusičnou a kyselinou chlorovodíkovou o objemu 10 ml při 120 °C po dobu dvou hodin. Rozložený vzorek byl filtrován přes filtrační papír. Poté byl naředěn deionizovanou vodou na objem 50 ml a analyzován pomocí ICP-MS [28].

Výsledky studie prokázaly, že zinek v listech břízy pochází ze vzduchu z prachových částic a je lidského původu. Z prachových částic typu PM10 a menších je zinek skrz listy ukládán do rostliny a akumulován v kořenech rostliny. Extrémně vysoké koncentrace zinku v listech břízy (316-4000 mg/kg) mají přímou souvislost s továrnou na zinek a metalurgickým průmyslem v Chelyabinsku [28].

2.7. Stanovení stopových prvků v listech pomocí ostatních metod

Míra znečištění listů *Ficus macrophylla* stopovými prvky v životním prostředí

V zalidněných oblastech je ve vzduchu vyšší koncentrace znečišťujících látek, které pocházejí z lidských zdrojů. Znečišťující látky se v ovzduší nachází jak v plynné, tak v pevné podobě. Tato studie se zaměřuje na stanovení hlavních stopových prvků v listech rostliny *Ficus macrophylla* z města Palermo v Itálii [29].

Usušené a rozdrcené vzorky listů byly analyzovány metodami instrumentální neutronové aktivační analýzy (INAA) a atomové emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) pro určení koncentrace prvků Br, Ca, K, Mg, P, Na a Sc. Koncentrace zbylých 13 stopových prvků (Al, As, Ba, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Pb, Rb, Sb, Sr a Zn) byla stanovena metodou ICP-MS [29].

Stanovené koncentrace v 39 vzorcích listů rostliny *Ficus macrophylla* byly pro vápník $21\,506 \pm 4195 \mu\text{g/g}$, pro měď $26,9 \pm 15 \mu\text{g/g}$ a pro olovo $2,61 \pm 1,32 \mu\text{g/g}$. Studie potvrdila, že listy této rostliny jsou vhodným materiálem pro screening znečištění ovzduší. [29].

Použití listů *Morus nigra* pro biomonitoring znečištění ovzduší

Studie se zaměřuje na stanovení 36 prvků v 120 vzorcích listů rostliny *Morus nigra* se snahou dokázat, že tato rostlina je vhodná pro biomonitoring znečištění ovzduší. Vzorky listů byly odebrány během všech ročních období v městě Islamabad. Jednotlivé oblasti odběru se mezi sebou lišili mírou znečištění ovzduší [30].

Odebrány byly vzorky svrchní půdy a kořenů a listů *Morus nigra*. Vzorky byly sušeny při teplotě $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ a poté byly drceny, aby bylo dosaženo homogenity vzorku. Stanovení prvků bylo provedeno metodami INAA a atomovou absorpční spektrometrií (AAS) [30].

Výsledky studie prokázaly, že listy rostliny *Morus nigra* mohou sloužit jako materiál pro posouzení míry znečištění ovzduší. Rostlina prokázala schopnost akumulace některých prvků (Al, As, Br, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Eu, Fe, Hf, La, Lu, Na, Pb, Sb, Sc, Se, Sm, Sn, Ta, Tb, Th, V, Yb a Zn). Akumulace takových prvků naznačuje zdroje emisí jako je automobilová doprava nebo průmyslová činnost [30].

3. Experimentální část

3.1. Seznam použitých chemikálií

Kyselina dusičná ($\geq 65\%$), semiconductor grade, šarže H3320 (Honeywell, Německo)

Peroxid vodíku ($\geq 30\%$), p.a., šarže 13160305 (Analytika, Česká republika)

Certifikovaný referenční materiál ASTASOL AN9094MFN-250 (As, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Mo, Ni, P, Pb, Sb, Se, Sn, Sr, Ti, Tl, V, Zn; koncentrace všech prvků 100 mg/l), čistota 99,98 %, šarže 0004 (Analytika, Česká republika)

Certifikovaný referenční materiál ASTASOL AN9022(1FN) (Ge $1\,000 \pm 2$ mg/l), čistota 99,99 %, šarže 0001 (Analytika, Česká republika)

Certifikovaný referenční materiál ASTASOL AN9059(1C) (Te $1\,000 \pm 2$ mg/l), čistota 99,999 %, šarže 0002 (Analytika, Česká republika)

Certifikovaný referenční materiál ASTASOL INTMIX01-250 (Bi, In, Sc, Tb, Y 10 mg/l), čistota 99,99 %, šarže 1014 (Analytika, Česká republika)

3.2. Použité přístroje a pomůcky

Hmotnostní spektrometr Agilent 7900 ICP-MS se zmlžovačem MicroMist (Agilent Technologies, USA) a kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem

Rozkladné zařízení Speedwave Xpert, rozkladné patrony DAP60 (Berghof, Německo)

Analytické váhy (Sartorius, Česká republika)

Sušárny (Memmert UM 400 a Memmert UNB 400, Německo)

Zdroj deionizované vody o vodivosti $0,055\ \mu\text{S}$ Milli-Qplus (Millipore, USA)

3.3. Sběr vzorků

Sběr listů byl proveden na různých místech v České republice (Tab. 3.1.). Postup sběru listů nebyl předmětem této práce.

Tab. 3.1.: Informace o vzorkovaném materiálu

Kód lokality	Lokalita sběru	Číslo vzorku	Strom	Datum sběru
CA	Praha (Kobylisy)	L01	Dub zimní	23.7.2018
		L02	Buk lesní	–
		L03	Javor klen	–
		L04	Habr obecný	–
		L05	Dub zimní	–
		L06	Lípa srdčitá	–
CB	Brno (Řečkovice)	L01	Dub zimní	29.5.2018
		L02	Javor babyka	–
		L03	Bez černý	–
CC	Doubravice nad Svitavou	L01	Dub letní	30.5.2018
		L02	Třešeň ptácnice	–
		L03	Javor babyka	–
CD	Liberec (Přehrada Harcov)	L01	Dub letní	31.5.2018
		L02	Buk lesní	–
		L03	Javor klen	–
CE	Sýkořice (Dřevíč)	L01	Buk lesní	2.6.2018
		L02	Habr obecný	–
		L03	Dub zimní	–
CF	Kladno (Dubí)	L01	Javor babyka	3.6.2018
		L02	Lípa velkolistá	–
		L03	Javor klen	–
CG	Praha (Petřín)	L01	Lípa velkolistá	4.6.2018
		L02	Javor mléčný	–
		L03	Javor babyka	–
CH	Desná (Riedlova hrobka)	L01	Buk lesní	5.6.2018
		L02	Bez černý	–
		L03	Buk lesní	–

Tab. 3.1.: Informace o vzorkovaném materiálu (pokračování)

Kód lokality	Lokalita sběru	Číslo vzorku	Strom	Datum sběru
CI	Krompach	L01	Buk lesní	6.6.2018
		L02	Lípa srdčitá	–
		L03	Jasan ztepilý	–
		L04	Javor klen	–
		L05	Javor klen	–
		L06	Javor klen	24.6.2018
CJ	Kokořínsko (Truskavna)	L01	Buk lesní	7.6.2018
		L02	Dub letní	–
CK	Bohumín (Skřečoň)	L01	Lípa velkolistá	11.6.2018
		L02	Buk lesní	–
		L03	Lípa srdčitá	–
		L04	Dub zimní	–
		L05	Habr obecný	–
		L06	Javor mléč	–
CL	Ostrava	L01	Lípa velkolistá	12.6.2018
		L02	Javor mléč	–
		L03	Javor mléč	–
		L04	Lípa velkolistá	–
		L05	Javor klen	–
		L06	Javor klen	–
CM	Vysoká	L01	Bez černý	13.6.2018
		L02	Habr obecný	–
		L03	Javor babyka	–
		L04	Hloh obecný	–
		L05	Lípa velkolistá	–
		L06	Dub letní	–

3.4. Příprava vzorků

Sušení vzorků

Vzorky listů byly skladovány v mrazáku při teplotě $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$. Z každého sběrného sáčku bylo vybráno několik listů, které byly umístěny na filtrační papír, na kterém byly vloženy do sušárny. Teplota byla nastavena na $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ a vzorek byl sušen 3 hodiny.

Po usušení byly listy přeneseny na čistý filtrační papír, do kterého byly zabaleny a ručně drceny na co nejmenší kusy. Následně byl vzorek sesypán do 50ml centrifugační zkumavky, která byla uzavřena víčkem a popsána názvem vzorku. Zvláštní důraz byl kladen na to, aby nedošlo k vzájemné kontaminaci vzorků, a proto byly filtrační papíry po každém použití vyměněny. Po drcení listů bylo provedeno kontrolní zvážení. Pokud byla hmotnost vzorku nižší 0,6 g, což byl trojnásobek hmotnosti vzorku zvolený pro mikrovlnný rozklad, byly listy daného vzorku dodatečně sušeny a drceny, aby bylo dosaženo požadované hmotnosti.

Mikrovlnný rozklad vzorku

Vzorky byly diferenčně váženy na analytických vahách do čistých a suchých rozkladných patron. Do rozkladných patron bylo váženo 0,15 – 0,20 g vzorku listů a následně bylo ke vzorku přidáno 6 ml kyseliny dusičné. Rozkladné patrony se vzorkem byly ponechány přes noc v digestoři, aby došlo k úplnému smočení listů v kyselině dusičné a proběhnutí případných spontánních reakcí ještě před samotným rozkladem. Po uběhnutí této doby byly do rozkladných patron přidány další 2 ml kyseliny dusičné. Patrony byly kontrolovány, aby byly zvenku úplně čisté a suché a aby na vnitřní stěně neulpěly žádné zbytky vzorku, které by se při rozkladu mohly zatavit do stěny patrony a poškodit ji.

Tab. 3.2.: Program mikrovlnného rozkladu

Číslo kroku	T [$^{\circ}\text{C}$]	p [bar]	t ₁ [min]	t ₂ [min]	P [%]
1	170	35	5	10	90
2	200	35	1	15	90
3	50	35	1	10	0

t₁ – doba pro dosažení teploty T, t₂ – doba udržování teploty T, P – maximální výkon magnetronu

Samotný rozklad byl proveden v mikrovlnném rozkladném zařízení, podle předvoleného teplotního programu „vegetables/leaves“ (Tab. 3.1.). Teplotním čidlem (ve všech patronách) a tlakovým čidlem (v patroně s nejvyšší navázkou vzorku) byl sledován

průběh rozkladu a případný vznik spontánních exergonických reakcí, při jejichž průběhu by musel být rozklad zastaven. Po ukončení teplotního programu byly patrony ponechány v zařízení dalších 30 minut, aby došlo ke snížení teploty a tlaku. Rozkladné patrony byly v digestoři postupně otevřeny a kapalný vzorek byl přelit do nové, čisté a označené 50ml centrifugační zkumavky. Byla provedena vizuální kontrola, že došlo k úplnému rozkladu vzorku. Následně byla patrona 2x propláchnuta deionizovanou vodou. Zkumavka se vzorkem byla doplněna deionizovanou vodou po rysku. Použité patrony byly ponechány přes noc naplněné 5 % kyselinou dusičnou a následně vypláchnuty deionizovanou vodou, aby mohly být znovu použity.

3.5. Analýza vzorků

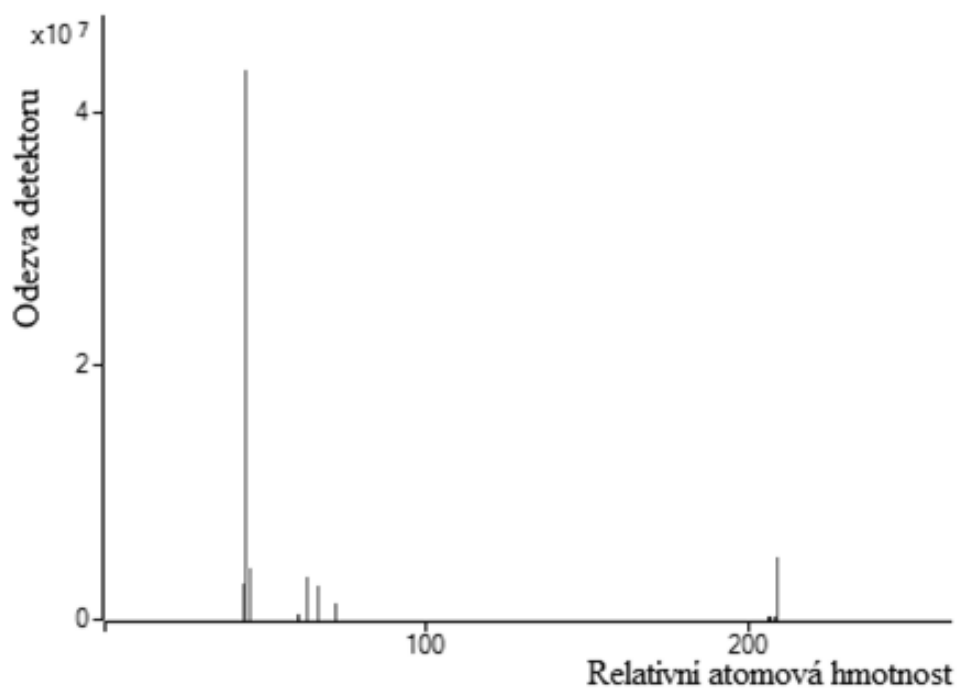
Vzorky byly podrobeny analýze hmotnostním spektrometrem s indukčně vázaným plazmatem. Byl připraven směsný roztok interních standardů (Bi, In, Sc, Tb, Y, Ge a Te) o koncentraci 100 µg/l. Ze zásobního roztoku certifikovaného referenčního materiálu AN9094MFN-250 byl připraven roztok o koncentraci 1 µg/g, jehož ředěním byly připraveny roztoky analytů o koncentracích 0; 0,5; 1,0; 5,0; 25; 50; 100 a 400 µg/l pro vytvoření kalibrační závislosti. Roztoky vzorků byly přelity z 50ml zkumavek do 15ml zkumavek vhodných pro umístění do automatického dávkovače. Zkumavky byly umístěny do stojanu a dány do automatického dávkovače. Nejdříve bylo provedeno ladění hmotnostního spektrometru. Následně byly změřeny kalibrační roztoky, a poté byly analyzovány roztoky vzorků. Analýza byla provedena v héliovém módu i v módu bez reakčního plynu.

Tab. 3.3.: Experimentální podmínky ICP-MS

Průtok argonu v plazmatu [l/min]	15
Průtok argonu zmlžovačem [l/min]	1,07
Teplota mlžné komory [°C]	2
Otáčky peristaltické pumpy zmlžovače [RPS]	0,1
Průtok helia kolizní celou [ml/min]	4,3
Mód detekce	pulsní/analogový
Interní standardy	⁸³ Bi, ²¹ Sc, ³² Ge

Pokud byla koncentrace některého analytu ve vzorku příliš vysoká, bylo nutné daný vzorek dodatečně naředit a příslušné vzorky bylo nutné znovu podrobit analýze na ICP-MS. Výstupní informací z hmotnostního spektrometru byly koncentrace prvků v jednotkách µg/l

přepočítávané z velikosti odezvy detektoru a hmotnostní čárové spektrum, které zobrazuje vedle sebe jednotlivé analyzované prvky a jejich izotopy, rozdělené podle jejich relativní atomové hmotnosti (Obr. 3.1.).



Obr. 3.1.: Hmotnostní čárové spektrum

4. Výsledková část a diskuse

V následující části (4.1.) budou shrnuty všechny dosažené výsledky a postupy výpočtů. V části (4.2.) budou následně výsledky diskutovány.

4.1. Vyhodnocení výsledků

Pro vyhodnocování byla použita data z měření v módu bez reakčního plynu. Na základě kalibrační závislosti přístroj následně vyhodnotil i koncentrace analytů v měřených roztocích vzorku. Kalibrační přímka je závislost odezvy detektoru udávané v počtu pulsů za sekundu na koncentraci prvků v roztoku standardu udávané v $\mu\text{g/l}$.

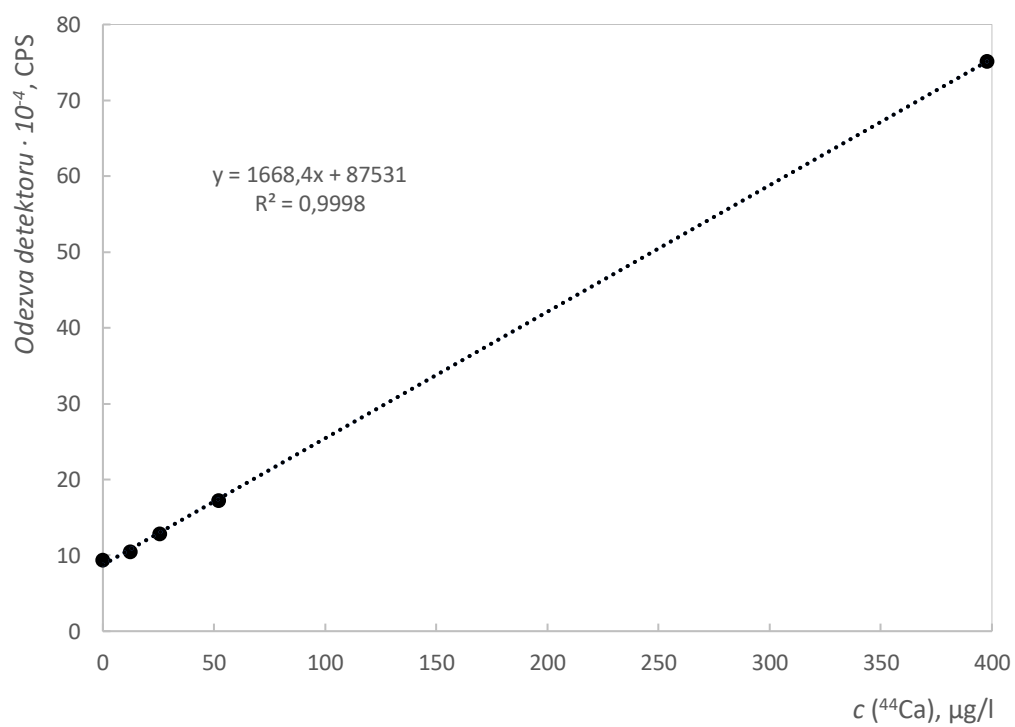
Pro vyhodnocení koncentrací analytů ve vzorku byl použit vždy jeden izotop stanovovaného prvku. Pro vápník to byl izotop ^{44}Ca , pro měď ^{63}Cu a pro olovo ^{208}Pb .

Tab. 4.1.: Koncentrace prvků v kalibračních roztocích

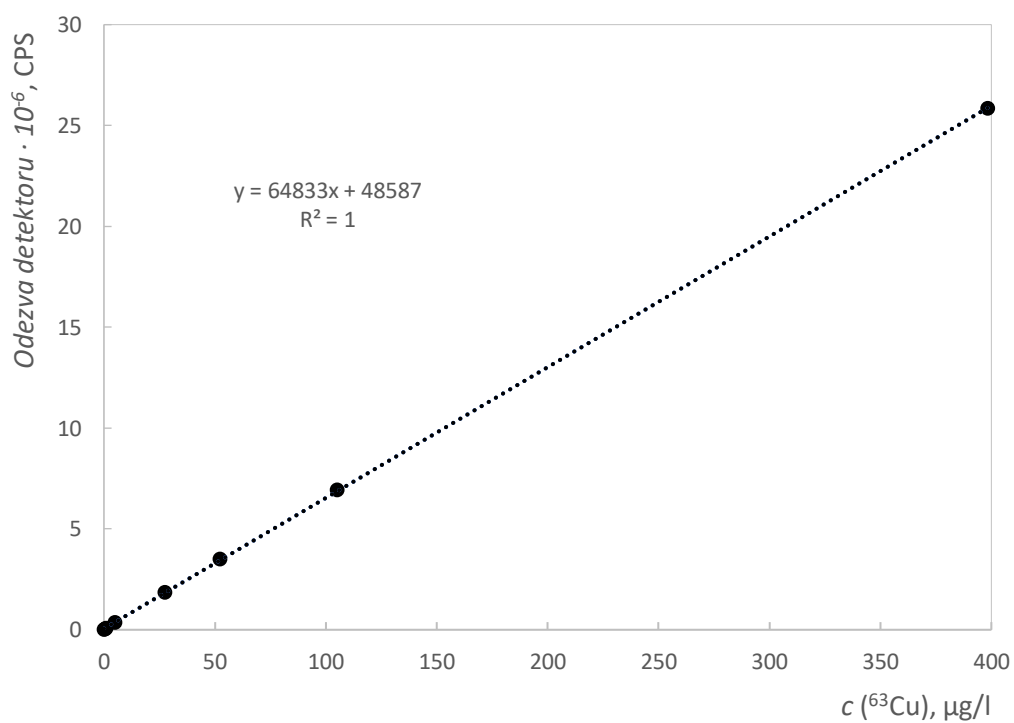
Číslo roztoku	c(Ca) [$\mu\text{g/l}$]	c(Cu) [$\mu\text{g/l}$]	c(Pb) [$\mu\text{g/l}$]
1	0	0	0
2	-	0,520	0,500
3	-	1,01	1,02
4	-	5,07	4,91
5	18,0	27,5	25,9
6	44,5	52,4	50,4
7	108	105	99,6
8	399	398	393

Tab. 4.2.: Odezva detektoru na kalibrační roztoky

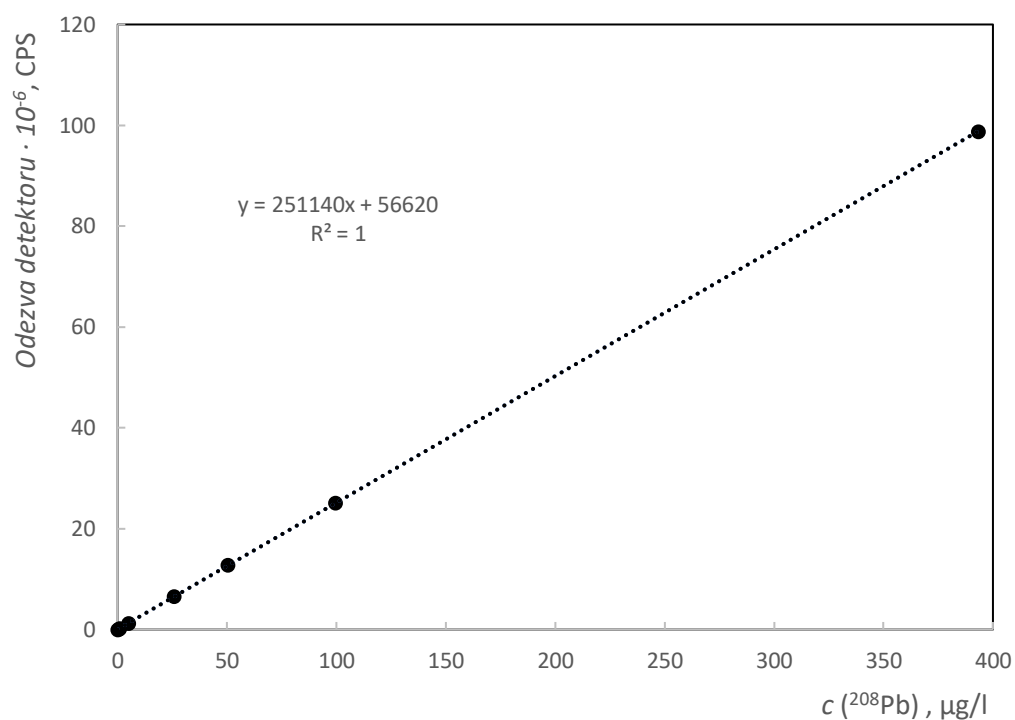
Číslo roztoku	Odezva (Ca) [CPS]	Odezva (Cu) [CPS]	Odezva (Pb) [CPS]
1	10350,9	17855,6	5734,1
2	-	51690,9	141708,9
3	-	83093,4	286387,2
4	-	362401,2	1285372,0
5	11762,2	1843202,1	6614694,1
6	14751,8	3499836,8	12789341,7
7	18196,2	6923716,8	25066573,8
8	53057,0	25845730,4	98788607,7



Obr. 4.1.: Graf kalibrační závislosti pro stanovení vápníku (^{44}Ca)



Obr. 4.2.: Graf kalibrační závislosti pro stanovení mědi (^{63}Cu)



Obr. 4.3.: Graf kalibrační závislosti pro stanovení olova (^{208}Pb)

Tab. 4.3.: Koncentrace analytů ve vzorcích změřené pomocí ICP-MS

Označení vzorku	c(Ca) [µg/l]	RSD (Ca) [%]	c(Cu) [µg/l]	RSD (Cu) [%]	c(Pb) [µg/l]	RSD (Pb) [%]
CA L01	477	0,8	26,5	0,3	1,53	1,6
CA L02	326	2,9	30,7	0,8	2,95	1,5
CA L03	521	1,4	24,4	0,8	4,91	0,1
CA L04	426	3,0	39,0	1,2	4,62	1,0
CA L05	468	1,0	33,5	0,5	1,94	0,8
CA L06	903	3,1	35,2	2,6	4,15	2,5
CB L01	500	1,7	32,1	1,3	1,52	1,0
CB L02	614	1,8	27,5	0,7	1,89	0,6
CB L03	831	4,0	61,5	0,5	3,30	0,6
CC L01	795	2,0	25,1	6,2	1,05	0,2
CC L02	163	13	31,5	1,1	2,16	0,8
CC L03	410	0,7	30,6	4,2	0,72	3,1
CD L01	501	3,2	41,3	1,4	1,28	0,8
CD L02	120	0,9	34,5	6,8	1,42	8,2

Tab. 4.3.: Koncentrace analytů ve vzorcích změřené pomocí ICP-MS (pokračování)

Označení vzorku	c(Ca) [μg/l]	RSD (Ca) [%]	c(Cu) [μg/l]	RSD (Cu) [%]	c(Pb) [μg/l]	RSD (Pb) [%]
CD L03	377	2,6	51,4	1,5	2,83	1,3
CE L01	243	1,9	31,1	1,0	1,15	0,5
CE L02	494	0,7	29,4	10	1,26	4,2
CE L03	463	4,1	35,6	0,9	0,68	1,2
CF L01	914	3,6	47,2	0,5	1,19	0,5
CF L02	637	3,2	29,2	0,7	0,83	1,1
CF L03	490	5,9	45,0	4,7	2,05	0,9
CG L01	260	1,3	33,7	0,8	1,46	1,2
CG L02	617	0,9	47,6	0,8	1,67	0,7
CG L03	562	0,2	24,5	0,9	1,08	1,0
CH L01	252	1,2	20,6	17	2,46	0,9
CH L02	522	2,6	34,5	5,9	3,56	3,6
CH L03	177	3,9	28,2	1,1	1,08	1,1
CI L01	175	1,1	36,0	2,7	0,95	4,4
CI L02	485	3,0	22,8	1,9	3,67	1,1
CI L03	459	1,5	33,8	0,7	1,82	0,8
CI L04	853	2,1	33,6	6,3	4,61	5,2
CI L05	292	3,4	15,7	0,4	2,24	1,6
CI L06	506	1,7	32,6	0,6	1,59	0,4
CJ L01	461	3,4	30,4	2,6	0,61	1,5
CJ L02	839	3,4	32,7	1,8	1,10	2,3
CK L01	257	3,1	33,2	1,0	3,95	0,6
CK L02	471	2,5	49,5	0,9	12,08	0,7
CK L03	238	1,1	25,1	4,2	2,29	2,9
CK L04	334	1,3	30,6	1,5	8,55	0,5
CK L05	397	3,5	30,4	0,6	4,48	1,5
CK L06	319	1,6	37,8	2,1	2,59	1,2
CL L01	622	1,8	38,0	1,8	4,02	0,9
CL L02	995	1,7	44,4	1,3	5,55	1,6
CL L03	476	7,7	45,6	0,7	2,93	0,9
CL L04	550	0,7	53,9	1,1	3,55	1,3
CL L05	787	2,3	40,0	15	2,97	12,7

Tab. 4.3.: Koncentrace analytů ve vzorcích změřené pomocí ICP-MS (pokračování)

Označení vzorku	c(Ca) [μg/l]	RSD (Ca) [%]	c(Cu) [μg/l]	RSD (Cu) [%]	c(Pb) [μg/l]	RSD (Pb) [%]
CL L06	838	5,0	14,6	1,0	2,24	1,5
CM L01	375	2,4	27,2	2,2	5,33	1,2
CM L02	484	2,3	39,8	1,1	1,66	1,9
CM L03	821	4,5	33,3	2,0	3,63	3,5
CM L04	494	11	47,5	0,7	3,00	0,7
CM L05	395	2,1	27,6	1,4	0,81	1,0
CM L06	461	2,2	26,4	5,5	3,30	2,8

RSD – relativní směrodatná odchylka

Koncentrace v každém vzorku byly měřeny v triplikátech, uváděna je průměrná hodnota s relativní směrodatnou odchylkou.

Tab. 4.4.: Výsledné koncentrace analytů ve vzorku

Označení vzorku	Navážka vzorku [g]	c(Ca) [mg/g]	c(Cu) [μg/g]	c(Pb) [μg/g]
CA L01	0,1602	14,9 ± 0,12	8,26 ± 0,025	0,478 ± 0,0076
CA L02	0,1652	9,86 ± 0,29	9,28 ± 0,074	0,893 ± 0,013
CA L03	0,1549	16,8 ± 0,24	7,87 ± 0,063	1,585 ± 0,0016
CA L04	0,2045	10,4 ± 0,31	9,52 ± 0,11	1,130 ± 0,011
CA L05	0,1757	13,3 ± 0,13	9,54 ± 0,048	0,552 ± 0,0044
CA L06	0,1690	26,7 ± 0,83	10,4 ± 0,27	1,228 ± 0,031
CB L01	0,1473	17,0 ± 0,29	10,9 ± 0,14	0,516 ± 0,0052
CB L02	0,1732	17,7 ± 0,32	7,93 ± 0,056	0,546 ± 0,0033
CB L03	0,1933	21,5 ± 0,86	15,9 ± 0,080	0,854 ± 0,0051
CC L01	0,1680	23,7 ± 0,47	7,47 ± 0,46	0,313 ± 0,00063
CC L02	0,1810	4,51 ± 0,57	8,69 ± 0,096	0,597 ± 0,0048
CC L03	0,1691	12,1 ± 0,085	9,06 ± 0,38	0,213 ± 0,0066
CD L01	0,1779	14,1 ± 0,45	11,6 ± 0,16	0,360 ± 0,0029
CD L02	0,1482	4,07 ± 0,037	11,7 ± 0,79	0,479 ± 0,039
CD L03	0,1729	10,9 ± 0,28	14,9 ± 0,22	0,818 ± 0,011
CE L01	0,1633	7,45 ± 0,14	9,54 ± 0,095	0,352 ± 0,0018
CE L02	0,1713	14,4 ± 0,10	8,58 ± 0,88	0,368 ± 0,015
CE L03	0,1749	13,2 ± 0,54	10,2 ± 0,092	0,194 ± 0,0023
CF L01	0,1766	25,9 ± 0,93	13,4 ± 0,067	0,337 ± 0,0017
CF L02	0,1512	21,1 ± 0,67	9,66 ± 0,068	0,274 ± 0,0030

Tab. 4.4.: Výsledné koncentrace analytů ve vzorku (pokračování)

Označení vzorku	Navážka vzorku [g]	c(Ca) [mg/g]	c(Cu) [μg/g]	c(Pb) [μg/g]
CF L03	0,2050	12,0 ± 0,71	11,0 ± 0,52	0,500 ± 0,0045
CG L01	0,1801	7,21 ± 0,094	9,35 ± 0,075	0,405 ± 0,0049
CG L02	0,1858	16,6 ± 0,15	12,8 ± 0,10	0,449 ± 0,0031
CG L03	0,1543	18,2 ± 0,036	7,94 ± 0,071	0,350 ± 0,0035
CH L01	0,1911	6,58 ± 0,079	5,39 ± 0,92	0,644 ± 0,0058
CH L02	0,2013	13,0 ± 0,34	8,58 ± 0,51	0,884 ± 0,032
CH L03	0,1596	5,55 ± 0,22	8,84 ± 0,10	0,338 ± 0,0037
CI L01	0,1523	5,73 ± 0,063	11,8 ± 0,32	0,312 ± 0,014
CI L02	0,1468	16,5 ± 0,50	7,759 ± 0,15	1,25 ± 0,014
CI L03	0,1672	13,7 ± 0,21	10,11 ± 0,071	0,544 ± 0,0044
CI L04	0,1944	21,9 ± 0,46	8,64 ± 0,54	1,19 ± 0,062
CI L05	0,1672	8,72 ± 0,30	4,68 ± 0,019	0,670 ± 0,011
CI L06	0,1780	14,2 ± 0,24	9,15 ± 0,055	0,447 ± 0,0018
CJ L01	0,1693	13,6 ± 0,46	8,96 ± 0,23	0,180 ± 0,0027
CJ L02	0,1704	24,6 ± 0,84	9,59 ± 0,17	0,323 ± 0,0074
CK L01	0,1665	7,72 ± 0,24	9,98 ± 0,10	1,19 ± 0,0071
CK L02	0,1883	12,5 ± 0,31	13,2 ± 0,12	3,208 ± 0,022
CK L03	0,1590	7,48 ± 0,082	7,90 ± 0,33	0,720 ± 0,021
CK L04	0,1561	10,7 ± 0,14	9,81 ± 0,15	2,74 ± 0,014
CK L05	0,1761	11,3 ± 0,39	8,63 ± 0,052	1,27 ± 0,019
CK L06	0,1669	9,56 ± 0,15	11,3 ± 0,24	0,776 ± 0,0093
CL L01	0,1884	16,5 ± 0,30	10,1 ± 0,18	1,07 ± 0,096
CL L02	0,1669	29,8 ± 0,51	13,3 ± 0,17	1,66 ± 0,027
CL L03	0,1844	13,0 ± 0,99	12,4 ± 0,087	0,794 ± 0,0072
CL L04	0,1518	18,1 ± 0,13	17,7 ± 0,20	1,17 ± 0,015
CL L05	0,1989	19,8 ± 0,46	10,1 ± 1,5	0,747 ± 0,095
CL L06	0,1714	24,4 ± 1,2	4,27 ± 0,043	0,653 ± 0,098
CM L01	0,1525	12,3 ± 0,30	8,91 ± 0,20	1,75 ± 0,021
CM L02	0,1674	14,5 ± 0,33	11,9 ± 0,13	0,496 ± 0,009
CM L03	0,2056	20,0 ± 0,90	8,10 ± 0,16	0,883 ± 0,031
CM L04	0,1735	14,2 ± 1,6	13,7 ± 0,10	0,865 ± 0,006
CM L05	0,1962	10,1 ± 0,21	7,02 ± 0,098	0,206 ± 0,0021
CM L06	0,1658	13,9 ± 0,31	7,95 ± 0,44	0,995 ± 0,028

Koncentrace analytů ve slepém pokusu byla zanedbatelná oproti jejich koncentraci v roztocích vzorků, a proto nebyla použita při korekci výsledků. Koncentrace změřená na ICP-MS byla násobena ředícím faktorem, který byl pro měď a olovo 1 a pro vápník 100, respektive 1000 u vzorků, které bylo nutné naředit více.

Tab. 4.5.: Průměrné koncentrace vápníku, mědi a olova ve všech vzorcích

Prvek	Průměrná koncentrace
Ca [mg/g]	14,4 ± 5,9
Cu [μg/g]	9,91 ± 2,5
Pb [μg/g]	0,788 ± 0,58

Vzorce použité při výpočtech

$$m = c_m \cdot V, c_m = m_{\text{analytu}}/m_{\text{vzorku}}, S = c_m/100 \cdot RSD$$

Použity byly také výpočetní funkce v programu Microsoft Excel pro průměrnou hodnotu a směrodatnou odchylku.

Mez detekce a koncentrace odpovídající pozadí

Mez detekce (LOD) odpovídá koncentraci, pro kterou je analytický signál statisticky významně odlišný od šumu. Koncentrace odpovídající pozadí (BEC) může pomoci odhalit případné spektrální interference iontů o stejné hmotnosti jako analyt. Hodnoty LOD a BEC byly převzaty ze softwaru hmotnostního spektrometru. Po ukončení měření byl limit detekce vyjádřen jako koncentrace odpovídající pozadí, jednotlivě pro konkrétní izotopy prvků, jelikož koncentrace stanovovaného prvku by neměla být nižší než koncentrace odpovídající pozadí.

Tab. 4.6.: LOD a BEC určené přístrojem ICP-MS

Analyt	LOD [μg/l]	BEC [μg/l]
⁴⁴ Ca	1,22	63,9
⁶³ Cu	0,00272	0,268
²⁰⁸ Pb	0,00139	0,0223

4.2. Diskuse

Vzorkovaný materiál byl dodán v podobě listů, které byly uchovávány v mrazáku při teplotě $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$. Před rozkladem a analýzou vzorků bylo nutné materiál dokonale zbavit vody, která by mohla způsobit vývoj exergonických reakcí při rozkladu, a také aby stanovené koncentrace kovů mohly být vztaženy na hmotnost sušiny. Teplota sušení byla stanovena na $90\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby byla doba sušení co nejkratší, ale zároveň nedošlo k destrukci vzorku. Doba sušení byla stanovena experimentálně. Vzorek listů byl sušen vždy hodinu, a poté byl zvážen. Tento postup byl opakován, dokud se hmotnost vzorku nadále neměnila. Hmotnost vzorku byla po 3 hodinách sušení konstantní. Doba sušení byla stanovena na 3 hodiny.

Před rozkladem bylo nutné určit směs a množství chemikálií, které se přidají k navážce vzorku do rozkladné patrony. Nejprve bylo k jedné sadě vzorků přidáno 6 ml kyseliny dusičné a poté 2 ml peroxidu vodíku. Patrony byly nechány v digestoři stát po dobu 1 hodiny, aby mohly proběhnout případné exergonické reakce. Po uběhnutí této doby byly patrony zkontrolovány a bylo zjištěno, že vzorek byl nadnášen. Tomu bylo nutné zabránit, jelikož nadnášené listy nebyly ponořené v kapalině a nedošlo by tak k dostatečné přípravě vzorku na rozklad. Proto bylo přistoupeno k jinému způsobu přípravy vzorků na rozklad. K nové sadě vzorků bylo přidáno pouze 6 ml kyseliny dusičné. Po této úpravě postupu už nedocházelo k nadnášení vzorků v patroně. Doba přípravy vzorků před rozkladem byla stanovena na 12 hodin, aby případné exergonické reakce proběhly ještě před umístěním patrony do mikrovlnného rozkladného zařízení. Po uběhnutí této doby byly do rozkladných patron přidány ještě 2 ml kyseliny dusičné, aby byl celkový objem kapaliny v patroně doplněn na 8 ml a došlo k případnému smytí vzorku ulpělého na stěnách patrony.

Navážka vzorku pro první sadu rozkladných patron byla $0,25 - 0,30\text{ g}$. Pro zvolený objem kyseliny dusičné, byl tento hmotnostní rozsah příliš vysoký a nedocházelo k úplnému smočení veškerého pevného podílu v uvedeném množství kapaliny. Navážka byla proto snížena na $0,15 - 0,20\text{ g}$. Toto množství bylo vyhovující, aby proběhla dostatečná příprava vzorku na rozklad.

Interní standardy pro měření na ICP-MS byly vybírány tak, aby vyhovovaly stanovovanému analytu. Bylo vhodné, aby interní standard měl zároveň podobnou relativní atomovou hmotnost a první ionizační energii jako analyt. Na základě těchto podmínek bylo vybráno skandium jako interní standard pro vápník, germanium pro měď a bismut pro olovo.

Pro stanovení koncentrací byly zvolené takové izotopy, jejichž hmotnost neměl žádný jiný izotop prvku, který mohl být přítomen ve vzorku, proto aby nedošlo k interferencím. Současně bylo přihlíženo k zastoupení daného izotopu prvku. Také bylo přihlíženo k tomu, aby koeficient determinace kalibrační přímky pro daný izotop byl co nejblíže hodnotě 1.

Při stejném poměru m/z , jaký má izotop ^{44}Ca , existují možné polyatomické izobarické interference $^{12}\text{C}^{16}\text{O}$, $^{14}\text{N}_2^{16}\text{O}$, $^{28}\text{Si}^{16}\text{O}$. Vzhledem ke koncentraci Ca ve vzorcích byly ale posouzeny jako málo rizikové pro přesnost stanovení. Při poměru m/z 63, kterou měl analyt ^{63}Cu mohou interferovat polyatomické ionty složení $^{31}\text{P}^{16}\text{O}_2$, $^{40}\text{Ar}^{23}\text{Na}$, $^{47}\text{Ti}^{16}\text{O}$, $^{23}\text{Na}^{40}\text{Ca}$, $^{46}\text{Ca}^{16}\text{O}^1\text{H}$, $^{36}\text{Ar}^{12}\text{C}^{14}\text{N}^1\text{H}$, $^{14}\text{N}^{12}\text{C}^{37}\text{Cl}$ a $^{16}\text{O}^{12}\text{C}^{35}\text{Cl}$, které byly vyjma $^{23}\text{Na}^{40}\text{Ca}$, $^{40}\text{Ca}^{23}\text{Ar}$ a $^{46}\text{Ca}^{16}\text{O}^1\text{H}$ posouzeny jako nevýznamné. Polyatomické ionty $^{23}\text{Na}^{40}\text{Ca}$, $^{40}\text{Ca}^{23}\text{Ar}$ a $^{46}\text{Ca}^{16}\text{O}^1\text{H}$ mohou při stanovení ^{63}Cu interferovat, protože zastoupení ^{40}Ca a ^{23}Na je vysoké, tedy i izobarická interference by mohla být významná. Při porovnání stanovených koncentrací ^{63}Cu v módu bez reakčního plynu a héliovém módu však bylo zjištěno, že koncentrace vycházejí v obou módech stejně. Při poměru m/z 208, odpovídající analytu ^{208}Pb existuje pouze polyatomická interference $^{192}\text{Pt}^{16}\text{O}$, kterou můžeme považovat z velmi nepravděpodobnou. Vyhodnocení bylo provedeno v módu bez reakčního plynu [31].

Rozsah kalibrační závislosti, koncentrace jednotlivých kalibračních roztoků a odhad přibližných koncentrací analytů byl získán literární rešerší několika zdrojů, které byly použity v teoretické části, a které se zabývají podobnou problematikou (Tab. 4.5.). Uvedeny byly pouze nejvyšší koncentrace, které byly v dané studii pro prvek uvedeny. Na základě těchto údajů byl stanoven rozsah kalibrační závislosti na 0–400 $\mu\text{g/l}$. Pro vápník nebyly použity kalibrační roztoky o koncentracích 0,5, 1,0 a 5,0 $\mu\text{g/l}$, protože vzhledem k hodnotám v literatuře nebyla očekávána tak nízká koncentrace vápníku ve vzorku (Tab. 4.1., 4.2.). U kalibrační závislosti pro vápník bylo rozhodnuto o vyřazení bodu pro koncentraci 100 $\mu\text{g/l}$, protože byl odlehlý.

Tab. 4.5.: Nejvyšší koncentrace prvků a rozsah kalibračních závislostí v použité literatuře

Zdroj	c(Ca) [$\mu\text{g/g}$]	c(Cu) [$\mu\text{g/g}$]	c(Pb) [$\mu\text{g/g}$]	Rozsah [$\mu\text{g/l}$]
[27]	600	27	5	0–200
[29]	21 506	27	3	0–500
[25]	-	23	4	-
[24]	-	21	5	-

Koncentrace vápníku ve změřených vzorcích byla nakonec přibližně 100x vyšší, než bylo předpokládáno. Roztoky vzorků byly naředěny 100x a poté znovu měřeny na ICP-MS. V ředěných vzorcích byl stanovován pouze vápník. Při kontrole výsledků bylo zjištěno, že koncentrace některých vzorků je stále příliš vysoká. Tyto vzorky byly dodatečně 10x naředěny. Výsledky ředěných roztoků byly při vyhodnocování násobeny odpovídajícím ředícím faktorem.

Z použité literatury v teoretické části byla nalezena největší shoda ve výsledcích se studií zabývající se analýzou stopových prvků v listech *Ficus macrophylla*. K porovnání s výsledky v této práci (Tab. 4.5.), průměrná koncentrace vápníku v listech *Ficus macrophylla* byla $21,5 \pm 4,2$ mg/g, průměrná koncentrace mědi $26,9 \pm 15$ µg/g a průměrná koncentrace olova $2,61 \pm 1,3$ µg/g [29].

Průměrná koncentrace vápníku v listech vzorkovaných v Praze (Kobylisy) je 15,3 mg/g, mědi 9,15 µg/g a olova 0,977 µg/g. Oproti tomu průměrná koncentrace vápníku v listech vzorkovaných v Ostravě je 20,2 mg/g, mědi 11,3 µg/g a olova 1,016 µg/g. Těžké kovy jsou absorbovány rostlinou z prachových částic, na kterých jsou sorbovány (Obr. 2.3.). Z výsledků je patrné, že vyšší koncentrace těžkých kovů byly nalezeny ve vzorcích listů z Ostravy. Na základě těchto výsledků lze očekávat, že v Ostravě bude v ovzduší vyšší koncentrace prachových částic s těžkými kovy [22].

Z měřených vzorků byla nejvyšší koncentrace vápníku ve vzorku CL L02, která byla $29,8 \pm 0,51$ mg/g. Vzorkovaným materiálem byly listy javoru mleč v Ostravě. Nejnižší koncentrace vápníku byla ve vzorku CH L03, která byla $5,55 \pm 0,22$ mg/g (Tab. 4.4.). Vzorkovaným materiálem byly listy dubu lesního v Desné (Riedlova hrobka) (Tab. 4.1.).

Nejvyšší koncentrace mědi byla nalezena ve vzorku CL L04, která byla $17,7 \pm 0,20$ µg/g. Vzorkovaným materiálem byly listy lípy velkolisté v Ostravě. Nejnižší koncentrace mědi byla ve vzorku CL L06, která byla $4,27 \pm 0,043$ µg/g (Tab. 4.4.). Vzorkovaným materiálem byly listy javoru klenu v Ostravě (Tab. 3.1.).

Koncentrace olova ve vzorku CK L02 byla $3,208 \pm 0,022$ µg/g a byla nejvyšší ze všech měřených vzorků. Vzorkovaným materiálem byly listy buku lesního v Bohumíně (Skřečůň). Koncentrace olova ve vzorku CE L03 byla $0,194 \pm 0,0023$ µg/g a byla nejnižší ze všech měřených vzorků (Tab. 4.4.). Vzorkovaným materiálem byly listy dubu zimního v Sýkořici (Dřevíč) (Tab. 3.1.).

5. Závěr

Cíle práce byly splněny. Vzorky listů byly úplně vysušeny, nadrženy a rozloženy za pomoci kyseliny dusičné a mikrovlnného rozkladného zařízení. Doba sušení byla experimentálně stanovena na 3 h při 90°C. Směs a množství chemikálii při rozkladu vzorku bylo určeno na celkem 8ml kyseliny dusičné. Navážka vzorku byla stanovena na rozmezí 0,15 – 0,20 g. Kapalina byla po rozkladu čirá a vzorky byly připraveny pro analýzu. Všechny vzorky byly úspěšně podrobeny analýze na ICP-MS. Ve vzorcích byla stanovena koncentrace vápníku, mědi a olova. Koncentrace vápníku byla v rozmezí 5,55 – 29,8 mg/g a jeho průměrná koncentrace byla $14,4 \pm 5,95$ mg/g. Koncentrace mědi byla v rozmezí 4,27 – 17,7 µg/g a její průměrná koncentrace byla $9,91 \pm 2,5$ µg/g. Koncentrace olova byla v rozmezí 0,194 – 3,21 µg/g a jeho průměrná koncentrace byla $0,788 \pm 0,58$ µg/g. Zvolené postupy byly vhodné pro přípravu vzorků k analýze metodou ICP-MS a metoda ICP-MS byla díky nízkým limitům detekce vhodná pro stanovení koncentrací všech vybraných kovů.

6. Seznam použité literatury

- [1] Otruba, V.: *Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem*. Kurz ICP-MS/OES MU Brno – Bohunice, VIII: ICP-MS (2015).
- [2] Ammann, A.A.: Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP MS): A versatile tool. *Journal of Mass Spectrometry* **42**, 419–27 (2007).
- [3] Němcová, I.; Čermáková, L.; Rychlovský, P.: *Spektrometrické Analytické Metody I*. Praha, Nakladatelství Karolinum 2004.
- [4] Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; Crouch, S.R.: *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 9. vyd., Brooks/Cole, Cengage Learning 2014.
- [5] Zhang, S.; Zhou, M.: Comparison of DMA-80 and ICP-MS Combined with Closed-Vessel Microwave Digestion for the Determination of Mercury in Coal. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* **2020**, (2020)
- [6] Speedwave Xpert: Microwave Digestion System, User Manual. version 2.3., BERGHOF Products + Instruments GmbH 2017.
- [7] Richter, R. C.; Link, D.; Kingston, H.M.: Microwave-Enhanced. *Analytical Chemistry* **72**, 31-37 (2000).
- [8] Housecroft, C. E.; Sharpe, A.G.: *Inorganic Chemistry*. 4. vyd., Pearson 2012.
- [9] Shields, W.R.; Murphy, T.J.; Garner, E.L.: Absolute isotopic abundance ratio and the atomic weight of a reference sample of copper. *Journal of Research of the National Bureau of Standards Section A: Physics and Chemistry* **68**:6. 589-592 (1964).
- [10] Prokeš, J. et al.: *Základy Toxikologie*. Praha, Galén-Karolinum 2005.
- [11] Linder, M.C.: *Bochemistry of Copper*. Springer 1991.
- [12] Adrees, M.; Ali, S.; Rizwan, M. et al.: The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. *Environmental Science and Pollution Research* **22**, 8148–62 (2015).
- [13] Harbison, R.D.; Bourgeois, M. M.; Johnson, G. T.: *Hamilton & Hardy's Industrial Toxicology*. 6. vyd., John Wiley & Sons 2015.

- [14] Lofts, S.; Criel, P.; Janssen, C.R. et al.: Modelling the effects of copper on soil organisms and processes using the free ion approach: Towards a multi-species toxicity model. *Environmental Pollution* **178**, 244–53 (2013).
- [15] Wu, G.; Zhu, J. M.; Tan, D. et al.: Accurate and precise determination of lead isotope composition in selected geochemical reference materials. *Acta Geochimica* **36**, 421–5 (2017).
- [16] Deljanin, I. V.; Tomašević, M. N.; Urošević, M. P. A. et al.: Lead isotopic composition in tree leaves as tracers of lead in an urban environment. *Ecological Indicators* **45**, 640–7 (2014).
- [17] Shroff, R.; Fewtrell, M.; Heuser, A. et al.: Naturally Occurring Stable Calcium Isotope Ratios in Body Compartments Provide a Novel Biomarker of Bone Mineral Balance in Children and Young Adults. *Journal of Bone and Mineral Research* **36**, 133–42 (2021).
- [18] Uusi-Rasi, K.; Kärkkäinen, M. U. M.; Lamberg-Allardt, C. J. E.: Calcium intake in health maintenance – a systematic review. *Food & Nutrition Research* **57**, 21082 (2013).
- [19] Richter, R.: *Vápník*. Dostupné z URL: <https://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/biogenni_prvky/ca.htm> [cit. 16. 6. 2021]
- [20] Greenwood, N. N.; Earnshaw, A.: *Chemistry of the Elements*. Elsevier 2012.
- [21] Rusek, V.: *Základy Toxikologie a Úvod Do Problematiky Hygieny a Bezpečnosti Práce v Chemické Laboratoři*. Univerzita Pardubice 2001.
- [22] Sharma, P.; Yadav, P.; Ghosh, C. et al.: Heavy metal capture from the suspended particulate matter by *Morus alba* and evidence of foliar uptake and translocation of PM associated zinc using radiotracer (^{65}Zn). *Chemosphere* **254**, 126863 (2020).
- [23] Zheng, G.; Zhang, R.; Zhou, F. et al.: Foliar uptake and transport of atmospheric trace metals bounded on particulate matters in epiphytic *Tillandsia brachycaulos*. *International Journal of Phytoremediation* **0**, 1-7 (2020).
- [24] Tunay, Z.; Yener, İ.; Oral, V. E. et al.: Trace element analysis in some salvia species by inductively coupled plasma-mass spectrometry (Icp-ms) and chemometric approach. *Journal of Research in Pharmacy* **24**, 297–309 (2020).

- [25] Wiseman, C. L. S.; Zereini, F.; Püttmann, W.: Science of the Total Environment Traffic-related trace element fate and uptake by plants cultivated in roadside soils in Toronto, Canada. *Science of the Total Environment* **442**, 86–95 (2014).
- [26] Thanh-Nho, N.; Marchand, C.; Strady, E. et al.: Bioaccumulation of some trace elements in tropical mangrove plants and snails (Can Gio, Vietnam). *Environmental Pollution* **248**, 635–45 (2019).
- [27] Chen, C.; Shao, Y.; Li, Y. et al.: Trace Elements in *Lycium barbarum* L. Leaves by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry after Microwave Assisted Digestion and Multivariate Analysis. *Spectroscopy Letters* **48**, 775–80 (2015).
- [28] Krupnova, T. G.; Rakova, O. V.; Gavrilkina, S. V. et al.: Extremely high concentrations of zinc in birch tree leaves collected in Chelyabinsk, Russia. *Environmental Geochemistry and Health* **3**, (2020).
- [29] Alaimo, M.G.; Varrica, D.: Recognition of trace element contamination using ficus macrophylla leaves in urban environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **17**, 1–14 (2014).
- [30] Daud, M.; Khalid, N.; Waheed, S. et al.: *Morus nigra* plant leaves as biomonitor for elemental air pollution monitoring. *Radiochimica Acta* **99**, 243–52 (2011).
- [31] May, T. W.; Wiedmeyer, R. H.: A table of Polyatomic Interferences in ICP-MS, *Atomic Spectroscopy* **19**(5), 150-155 (1998).